

Aravind Selvaram Thirunavukarasu M.Tech.,
Laboratorium Biomolekularnych Interakcji i Transportu
Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Uniwersytet Poznański 6,
61-614 Poznań,

Rola tuneli przejściowych w funkcjonowaniu enzymów z głęboko osadzonymi miejscami aktywnymi

Enzymy z głęboko osadzonymi miejscami aktywnymi mają prowadzące do nich ścieżki, które nazywane są tunelami. Skupiając się na rodzinie enzymów hydrolaz i podkreślając znaczenie wody w tych tunelach, niniejsze badanie zapewnia cenny wgląd w ich funkcjonalne implikacje. Dzięki wykorzystaniu symulacji dynamiki molekularnej i adaptacyjnych technik próbkowania, stany konformacyjne systemów są dokładnie badane. W szczególności obliczenia tuneli prowadzących do miejsca aktywnego są przeprowadzane dla wszystkich ramek obszernej symulacji, co prowadzi do identyfikacji wcześniej nierozpoznanych tuneli. Śledząc ruch cząsteczek wody z objętości do określonego regionu (miejsca aktywnego) białka, określone są ścieżki transportu wykorzystywane przez enzym podczas symulacji. Aby ułatwić analizę ogromnych ilości danych związanych z tunelami i cząsteczkami wody, opracowano moduł Python o nazwie TransportTools. Moduł ten usprawnia analizę obszernych danych dotyczących tuneli i cząsteczek wody. Pomaga w ocenie wykorzystania cząsteczek wody, wydajności transportu i funkcjonalności w strukturach białkowych. Narzędzie to odkryło nowe tunele transportujące wodę w enzymach takich jak dehalogenaza haloalkanowa, zwiększając nasze zrozumienie dynamiki tuneli. Ponadto odkryto, że cząsteczki wody mogą skutecznie poruszać się w wąskich regionach tuneli poprzez interakcje wiązań wodorowych. Odkrycia te zostały potwierdzone poprzez porównanie hydrolazy epoksydowej typu dzikiego z jej mutantem E470G, w którym zaobserwowano wzrost wykorzystania alternatywnych tuneli w mutancie. Co więcej, wybór jawnych modeli wody, takich jak OPC, TIP3P i TIP4P-Ew, znacząco wpływa na wykorzystanie tuneli enzymatycznych przez cząsteczki wody. Zaobserwowane różnice między trzema modelami wody można przypisać różnicom w ich właściwościach dyfuzyjnych i rozkładach ładunku. W przypadku modelu TIP3P migracja wody była zauważalnie przyspieszona, transportując około 2,5- i 2,0-krotnie więcej cząsteczek wody niż w przypadku modeli OPC i TIP4P-Ew. Zjawisko to wynika przede wszystkim z zaobserwowanych krótszych czasów przejścia i większej liczby cząsteczek wody jednocześnie migrujących przez tunele przy zastosowaniu modelu TIP3P. Spójność tych wyników dla różnych enzymów, takich jak oksydaza alditolowa i cytochrom P450 2D6, wraz z geometrią tuneli, podkreśla ich szersze znaczenie. Podkreśla to znaczenie modelu wodnego dla dokładnych symulacji enzymów z głęboko osadzonymi miejscami aktywnymi, które mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia ich cykli katalitycznych, projektowania enzymów i przewidywania czasów przebywania leków.